

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 692 845**

51 Int. Cl.:

A61K 35/644 (2015.01)

A61K 36/185 (2006.01)

A61K 36/31 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 25/20 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.02.2015 PCT/IN2015/000067**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.09.2015 WO15132800**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.02.2015 E 15723048 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.07.2018 EP 3134097**

54 Título: **Composición para aliviar el dolor, el estrés y el insomnio**

30 Prioridad:

04.02.2014 IN 394MU2014

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

05.12.2018

73 Titular/es:

**BANSAL, ASHVANY KUMAR (100.0%)
Sri Radha Parthasarathi A1801, Mahaavir Heritage
Rain Tree Road Sector-35G, Plot No. 3, Kharghar
Navi Mumbai, Raigad 410210MAH, IN**

72 Inventor/es:

BANSAL, ASHVANY KUMAR

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 692 845 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición para aliviar el dolor, el estrés y el insomnio

5 Campo de la invención

La invención se refiere a una composición para aliviar al menos una de las afecciones de dolor, estrés e insomnio, un proceso para su preparación, sus usos y el uso para el tratamiento como se define en el conjunto de reivindicaciones adjuntas.

10

Antecedentes de la invención

Existen varios fármacos y formulaciones disponibles para tratar el dolor, el estrés y trastornos del sueño. El dolor es un síntoma importante en muchas afecciones médicas y puede interferir significativamente con la calidad de vida y el funcionamiento general de una persona. El dolor varía de una molestia leve o malestar sordo a un dolor agudo frecuentemente insoportable y puede ser generalizado o localizado. Los AINE (fármacos antiinflamatorios no esteroideos) tales como aspirina, ibuprofeno y naproxeno, se encuentran entre los fármacos recetados y de venta sin receta de uso más frecuente para aliviar los síntomas en afecciones inflamatorias agudas y crónicas que inducen dolor. Pero los pacientes continúan enfrentando el reto significativo de sus graves complicaciones como efectos adversos gastrointestinales (GI) y renales.

El estrés va en enorme aumento, particularmente entre la población urbana lo que da lugar a varios tipos de trastornos relacionados con el estrés. Numerosos tratamientos se usan para superar el estrés que van desde la aromaterapia hasta la administración de fármacos terapéuticos. La aromaterapia implica la inhalación de aceites esenciales. Sin embargo, se observa que la inhalación puede o no ser adecuada para todos ya que puede provocar irritación a las membranas mucosas sensibles y dañar los receptores olfatorios en el interior de la nariz. La inhalación prolongada de aceites esenciales concentrados puede provocar dolores de cabeza, vértigo, mareo, náuseas, y letargo. Por lo tanto, tal terapia para aliviar el estrés más bien podría agravar el estrés o provocar otros efectos no deseados. La administración de fármacos terapéuticos por vía oral o intravenosa necesita supervisión e intervención de un doctor, lo que plantea limitaciones a su aplicación. Además, tienen retraso en la aparición de la acción y efectos secundarios adversos por ejemplo las Benzodiazepinas, que pueden usarse para tratar el estrés tienen efectos potencialmente adictivos sobre el paciente.

El insomnio, o falta de sueño, un trastorno del sueño provocado por el estrés o de otra etiología es muy prevalente y afecta aproximadamente al 30 % de la población general. El sueño restringido crónicamente se ha convertido en la actualidad en un problema generalizado y grave en nuestra sociedad. El insomnio afecta el funcionamiento cognitivo y físico y se asocia con una amplia variedad de funciones diurnas afectadas en una serie de campos emocionales, sociales, y físicos y puede conducir a otros trastornos y riesgos para la salud. En la actualidad la terapia de primera línea para el insomnio son los antihistamínicos, benzodiazepinas y no benzodiazepinas. Estos fármacos tienen varios efectos perjudiciales por ejemplo los fármacos para el insomnio son adictivos y por lo tanto son perjudiciales para el paciente. Los fármacos inductores del sueño más recientes incluyen Zolpidem, que también muestra efectos secundarios siendo los más importantes somnolencia al día siguiente, recaída del insomnio, dependencia y abuso.

Además, el uso persistente de fármacos conduce al desarrollo de resistencia por los pacientes a tales fármacos y disminuye su respuesta al tratamiento adicional.

45

Las formulaciones tópicas disponibles para el tratamiento del dolor, el estrés y el insomnio tampoco carecen de efectos secundarios adversos. Por ejemplo, las formulaciones tópicas basadas en salicilato y capsaicina para el tratamiento del dolor son irritantes para la piel y ambas se evitan preferentemente incluso en cantidades trazas. La preparación tópica de hierba de San Juan para el tratamiento del estrés puede aumentar la sensibilidad de la piel a la luz solar y provocar erupciones. Las formulaciones tópicas para tratar el insomnio no son muy comunes y las pocas probadas generalmente no son muy eficaces.

Por lo tanto, las formulaciones tópicas disponibles no son muy eficaces para aliviar el dolor, el estrés o el insomnio. Por el contrario, las formulaciones tópicas disponibles o bien tienen efectos secundarios o no son capaces de aliviar eficazmente el dolor, el estrés o el insomnio de un individuo.

55

Por lo tanto, existe la necesidad de una composición más segura que pueda formularse para la administración tópica y pueda aliviar una o más de las afecciones seleccionadas de dolor, estrés e insomnio.

60 Resumen de la invención

En consecuencia, en un aspecto la presente invención proporciona una composición para aliviar una o más de las afecciones de dolor, estrés e insomnio.

65 En una modalidad, la presente invención proporciona una composición que comprende *Brassica campestris*, cera de abejas y *Dryobalanops camphora*.

En una modalidad, la composición de la presente invención comprende aceite de *Brassica campestris*, cera de abejas y aceite de *Dryobalanops camphora*.

5 En algunas modalidades, la presente invención proporciona una composición que comprende aceite de *Brassica campestris*, cera de abejas y *Dryobalanops camphora* para aliviar al menos una o más o todas las afecciones de dolor, estrés e insomnio.

10 En algunas modalidades, la presente invención proporciona una composición que comprende 40 a 75 partes en peso de aceite de *Brassica campestris*, 15 a 50 partes en peso de cera de abejas y 1 a 20 partes en peso de *Dryobalanops camphora*.

15 En otro aspecto la presente invención proporciona un método para preparar una composición para aliviar una o más de las afecciones de dolor, estrés e insomnio.

20 En una modalidad, la presente invención proporciona un método para preparar una formulación para aliviar al menos una de las afecciones de dolor, estrés e insomnio que comprende: calentar 40 a 75 partes en peso de aceite de *Brassica campestris* a una temperatura de 60 °C - 225 °C durante un período de tiempo específico; mezclar 15 a 50 partes en peso de cera de abejas en el aceite de *Brassica campestris* caliente al menos hasta que la cera de abejas se disuelva y mezclar 1 a 20 partes en peso de *Dryobalanops camphora* en la mezcla de aceite de *Brassica campestris* y cera de abejas.

25 En una modalidad la presente invención proporciona un método para preparar una formulación para aliviar al menos una de las afecciones de dolor, estrés e insomnio que comprende: calentar 40 a 75 partes en peso de aceite de *Brassica campestris* a una temperatura de 60 °C - 225 °C durante un período de tiempo específico; mezclar 15 a 50 partes en peso de cera de abejas en el aceite de *Brassica campestris* caliente al menos hasta que la cera de abejas se disuelva; retirar la mezcla del calor y mezclar 1 a 20 partes en peso de *Dryobalanops camphora*.

30 En una modalidad, el período de tiempo para calentar el aceite de *Brassica campestris* es un período de tiempo suficiente para alcanzar la temperatura de 60 °C - 225 °C.

En una modalidad, el calentamiento del aceite de *Brassica campestris* se lleva a cabo a una temperatura de 60 °C - 100 °C. En una modalidad de este tipo, el período de tiempo para calentar el aceite de *Brassica campestris* es un período de tiempo suficiente para alcanzar la temperatura de 60 °C - 100 °C.

35 En una modalidad, la presente invención proporciona el uso de la composición que comprende aceite de *Brassica campestris*, cera de abejas y aceite de *Dryobalanops camphora* para aliviar al menos una o más o todas las afecciones de dolor, estrés e insomnio.

40 En una modalidad, la presente invención proporciona el uso para el tratamiento de al menos una de las afecciones de dolor, estrés e insomnio que comprende aplicar la composición de la presente invención en áreas afectadas, áreas inflamadas, cabeza o todo el cuerpo.

Breve descripción de los dibujos

45 Otros objetivos, características y ventajas de la invención resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción cuando se lee en referencia a los dibujos acompañantes.

La Figura 1 ilustra el efecto de NM-2 (la formulación de la presente invención) sobre el edema de la pata inducido por carragenina en ratas en comparación con sus ingredientes individuales es decir aceite de mostaza, alcanfor y cera de abejas y la preparación Diclofenaco disponible en el mercado.

50 La Figura 2 ilustra el efecto de Diclofenaco, NM-2 (la formulación de la presente invención) en comparación con sus ingredientes individuales es decir aceite de mostaza, alcanfor y cera de abejas y la preparación Diclofenaco disponible en el mercado sobre el porcentaje de cambio en el volumen del edema de la pata inducido por carragenina.

55 La Figura 3 ilustra el efecto de Diclofenaco, NM-2 (la formulación de la presente invención) en comparación con sus ingredientes individuales es decir aceite de mostaza, alcanfor y cera de abejas y la preparación Diclofenaco disponible en el mercado sobre el tiempo de retirada de la pata en la hiperalgnesia inducida por privación del sueño REM.

La Figura 4 ilustra el efecto de Diclofenaco, NM-2 (la formulación de la presente invención) en comparación con sus ingredientes individuales es decir aceite de mostaza, alcanfor y cera de abejas y la preparación Diclofenaco disponible en el mercado sobre el aumento del tiempo de retirada de la pata en la hiperalgnesia inducida por privación del sueño REM.

60 Descripción de la invención

65 Cuando se introducen elementos de la presente descripción o la(s) modalidad(es) preferida(s) de esta, se entiende que los artículos "un", "una", "el/la" y "dicho/dicha" indican que hay uno o más de los elementos. Se entiende que los términos "comprende(n)", "incluye(n)" y "tiene(n)" son incluyentes e indican que puede haber elementos adicionales que los elementos enumerados.

La presente invención describe una composición que puede aliviar al menos una de las afecciones de dolor, estrés e insomnio.

5 En una modalidad, la presente invención proporciona una composición que comprende *Brassica campestris*, cera de abejas y *Dryobalanops camphora*.

Dryobalanops camphora puede incluirse en la composición de la presente invención ya sea en la forma cristalina o en forma de aceite. El aceite de *Dryobalanops camphora* y la *Dryobalanops camphora* en forma cristalina pueden usarse indistintamente en la composición de la presente invención.

10 En una modalidad, la composición de la presente invención comprende aceite de *Brassica campestris*, cera de abejas y aceite de *Dryobalanops camphora*.

15 En algunas de las modalidades, la presente invención proporciona una composición que comprende aceite de *Brassica campestris*, cera de abejas y *Dryobalanops camphora* para aliviar al menos una o más o todas las afecciones de dolor, estrés e insomnio.

20 Los ingredientes activos de la composición pueden combinarse en cualquier número de formas para optimizar los efectos deseados. De acuerdo con algunas de las modalidades, la composición de la presente invención comprende 40 a 75 partes en peso de aceite de *Brassica campestris*, 15 a 50 partes en peso de cera de abejas y 1 a 20 partes en peso de *Dryobalanops camphora*.

25 De acuerdo con otras modalidades adicionales, la composición de la presente invención comprende 55 a 65 partes en peso de aceite de *Brassica campestris*, 25 a 35 partes en peso de cera de abejas y 3 a 13 partes en peso de *Dryobalanops camphora*.

En una de las modalidades la relación de aceite de *Brassica campestris*, cera de abejas y *Dryobalanops camphora* es aproximadamente 1:0,5:0,1.

30 Sin embargo, como podrán reconocer los expertos en la técnica en base a las enseñanzas en la presente, la composición exacta puede variarse y las proporciones relativas de los ingredientes activos pueden variarse de cualquier manera para proporcionar aumentos o disminuciones en efectos particulares.

35 La composición de las modalidades anteriores puede incluir opcionalmente uno o más de otros ingredientes para proporcionar alivio adicional u otros beneficios. Por ejemplo, la composición puede comprender además uno o más de otro(s) ingrediente(s) activo(s) como ingredientes activos naturales por ejemplo extractos, tinturas, aceite esencial, aceite infundido o cualquier otro aceite. Preferentemente, tales ingredientes activos naturales se seleccionan de aceite de clavo, extracto o aceite de jengibre, aceite de sésamo, aceite de ricino, guggul, perfumes naturales o sus combinaciones. El(Los) otro(s) ingrediente(s) activo(s) puede(n) ser ingrediente(s) activo(s) sintético(s). El agente activo natural o sintético que puede incluirse en la composición de la presente invención puede seleccionarse sin limitación de un grupo que consiste en un agente de aumento de la circulación, un agente calmante de las articulaciones o los músculos y un estabilizante de membrana muscular.

45 En modalidades adicionales, la composición puede incluir opcionalmente uno o más excipientes aceptables para el uso farmacéutico. Los ejemplos de tales excipientes aceptables para el uso farmacéutico opcionales incluyen portadores; componentes de base por ejemplo agua, propilenglicol, glicerol, polietilenglicoles, siliconas, y/o un aceite tal como aceite vegetal, aceite de maní, aceite de ricino, y manteca de cacao y parafina líquida; tensioactivos; agentes espesantes por ejemplo estearato aluminico y lanolina hidrogenada; agentes gelificantes; agentes estabilizantes; agentes emulsionantes; agentes dispersantes; agentes de suspensión; humectantes; emolientes; componente de enfriamiento, un componente de aumento de la circulación, sustancias ácidas o alcalinas; agentes tamponantes; agentes anticristalinos; agentes lubricantes; agentes colorantes; perfumes o fragancia; agentes espumantes; diluyentes; rellenos; agentes aglutinantes o conservantes.

55 En otra modalidad adicional, la invención proporciona una formulación que comprende la composición de las modalidades anteriores. En algunas de las modalidades, la formulación puede comprender los excipientes aceptables para formular la composición como una formulación tópica seleccionada de uno o más del grupo que consiste en una formulación a base de agua, una formulación a base de silicona, una formulación a base de petróleo y una formulación a base de aceite natural. En modalidades preferidas, la formulación incluye excipientes para la formulación a base de aceite natural.

60 De acuerdo con otra modalidad, los aditivos adicionales pueden añadirse a la formulación para mejorar la estabilidad, la textura, el color, el olor y otras propiedades.

En algunas de las modalidades, las formulaciones que comprenden la composición de las modalidades anteriores pueden formularse en forma de un aceite, un gel, una crema, una loción, un bálsamo o un aerosol.

65

En otro aspecto la presente invención proporciona un método para preparar una composición para aliviar una o más de las afecciones de dolor, estrés e insomnio.

5 En una modalidad, la presente invención proporciona un método para preparar una formulación para aliviar al menos una de las afecciones de dolor, estrés e insomnio que comprende: calentar 40 a 75 partes en peso de aceite de *Brassica campestris* a una temperatura de 60 °C - 225 °C durante un período de tiempo específico; mezclar 15 a 50 partes en peso de cera de abejas en el aceite de *Brassica campestris* caliente al menos hasta que la cera de abejas se disuelva y mezclar 1 a 20 partes en peso de *Dryobalanops camphora*.

10 En una modalidad la presente invención proporciona un método para preparar una formulación para aliviar al menos una de las afecciones de dolor, estrés e insomnio que comprende: calentar 40 a 75 partes en peso de aceite de *Brassica campestris* a una temperatura de 60 °C - 225 °C durante un período de tiempo específico; mezclar 15 a 50 partes en peso de cera de abejas en el aceite de *Brassica campestris* caliente al menos hasta que la cera de abejas se disuelva; retirar la mezcla del calor, y mezclar 1 a 20 partes en peso de *Dryobalanops camphora*.

15 En una modalidad, el calentamiento del aceite de *Brassica campestris* a la temperatura de 60 °C - 225 °C se lleva a cabo durante el período de tiempo de aproximadamente un minuto a aproximadamente quince minutos. El período de tiempo puede variarse en dependencia de las cantidades y la escala a la que se fabrica la formulación para alcanzar la temperatura de 60 °C - 225 °C.

20 En una modalidad, el calentamiento del aceite de *Brassica campestris* se lleva a cabo a una temperatura de 60 °C - 100 °C. En una modalidad de este tipo, el período de tiempo para calentar el aceite de *Brassica campestris* es un período de tiempo suficiente para alcanzar la temperatura de 60 °C - 100 °C.

25 En una modalidad el aceite de *Brassica campestris* es 55 a 65 partes en peso de la formulación.

En una modalidad la cera de abejas es 25 a 35 partes en peso de la formulación.

30 En una modalidad la *Dryobalanops camphora* en forma cristalina o el aceite de *Dryobalanops camphora* es 3 a 13 partes en peso de la formulación.

De acuerdo con otra modalidad, el proceso implica además la adición de conservantes, emulsionantes, otros aditivos y agentes y/o excipientes aceptables para el uso farmacéutico.

35 En una modalidad, la presente invención proporciona el uso de la composición que comprende aceite de *Brassica campestris*, cera de abejas y *Dryobalanops camphora* para aliviar al menos una o más o todas las afecciones de dolor, estrés e insomnio.

40 En una modalidad, la presente invención proporciona un uso para el tratamiento de al menos una de las afecciones de dolor, estrés e insomnio que comprende aplicar la composición de la presente invención en una cantidad suficiente para cubrir áreas afectadas, áreas inflamadas, cabeza o todo el cuerpo según la necesidad del sujeto. La composición se administrará a un sujeto según sea necesario, se desee, o según la recomendación de un profesional médico, farmacéutico, médico asistente, herborista médico, naturópata, o veterinario.

45 Como se apreciará, la dosis administrada, el período de administración, y el régimen de administración general pueden diferir entre sujetos en dependencia de variables tales como la gravedad de los síntomas, y la edad y/o la salud general del sujeto. En general, cuando la composición se convierte en una formulación adecuada para la administración tópica, el régimen de administración para el tratamiento tópico es la aplicación a las áreas afectadas 1 vez o 2 veces o 3-4 veces o más de 4 veces en un día durante un día o un número de días en dependencia de la gravedad del dolor, el estrés o el insomnio.

50 En una modalidad en el caso de un sujeto con dolor se lleva a cabo un masaje suave con la formulación en y cerca del área afectada durante aproximadamente 2 minutos a 10 minutos o hasta el momento en que se sienta calidez en el área afectada.

55 En una modalidad para aliviar el estrés se lleva a cabo un masaje suave con la formulación en la frente durante 10 segundos a 1 minuto o/y masaje en la pierna por debajo de la rodilla y especialmente en la planta del pie durante aproximadamente 5 minutos a 20 minutos.

60 En una modalidad en el caso de un sujeto con insomnio, se lleva a cabo un masaje suave con la formulación en la pierna por debajo de la rodilla y especialmente en la planta del pie durante aproximadamente 5 minutos a 20 minutos, se ha descubierto que esto induce el sueño en el sujeto.

En algunas modalidades, la formulación o composición se aplica antes de acostarse.

65

La formulación o composición relaja el cuerpo y la mente del estrés y ayuda a dormir profundamente. Se ha descubierto que la formulación o composición es eficaz para aliviar el dolor y la inflamación. La composición o formulación de la presente invención puede usarse para curar las áreas inflamadas mediante la reducción del dolor y la hinchazón asociados con distensión muscular, esguinces, artritis, artritis reumatoide, bursitis, neuralgia, miositis, síndrome del túnel carpiano, lesiones internas, y otras afecciones que infligen dolor. Es útil además durante la distensión de los músculos durante los deportes, cualquier otra actividad o accidente.

De acuerdo con otra modalidad, la composición se aplica antes de realizar una actividad física extenuante tal como una maratón, carrera, largas caminatas o conducción, trabajo extenuante o cualquiera de las otras actividades extenuantes que pueden provocar dolor o estrés o que dan lugar a la falta de sueño. Por lo tanto, la composición puede usarse para prevenir el dolor, el estrés y el insomnio relacionado con el dolor o el estrés o el insomnio como tal.

La composición de la presente invención es eficaz para aliviar el dolor, el estrés y el insomnio y comprende muy pocos componentes es decir en una modalidad la composición de la presente invención contiene solo tres ingredientes. Además, el método para preparar la formulación no requiere etapas, equipos, maquinarias, configuraciones complicadas o energías muy altas. Por tanto, la composición y el proceso de la presente invención son muy ventajosos por los motivos de ser muy simples, económicos y eficaces para el tratamiento de más de una afección de dolor, estrés e insomnio.

Ahora se hará referencia en detalle a ciertas modalidades de la invención.

EJEMPLOS

Ejemplo 1 - Preparación de formulación tópica de aceite

Una formulación tópica de aceite como una modalidad ilustrativa se preparó de la siguiente manera.

Se calentó 62,50 ml de aceite de *Brassica campestris* a una temperatura de 100 °C, durante aproximadamente 3 a 10 minutos. Se mezcló 31,25 g de cera de abejas en el aceite de *Brassica campestris* caliente para disolver completamente la cera de abejas. La mezcla se retiró del calor y se añadió 6,25 g de *Dryobalanops camphora* y se mezcló. La mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente. Después se embotelló.

Ejemplo 2 - Evaluación del efecto antiinflamatorio y analgésico de la formulación tópica de aceite en comparación con sus ingredientes individuales:

El objetivo del estudio fue evaluar la formulación tópica de aceite preparada según el Ejemplo 1 (referida en la presente como NM- 2) y sus ingredientes individuales para aliviar el dolor y la inflamación asociada.

Materiales y métodos:

Se usó el edema de la pata inducido por carragenina para probar las propiedades antiinflamatorias y analgésicas agudas de la NM- 2 y sus ingredientes individuales.

Fundamento lógico:

Este modelo prueba la capacidad de los fármacos de inhibir el edema producido en la pata trasera de la rata después de la inyección de un agente flogístico (irritante) tal como la carragenina. El volumen de la pata inyectada se mide antes y después de la aplicación del irritante y el volumen de la pata de los animales tratados se compara con el del grupo de control de enfermedad.

Procedimiento:

Para el estudio se usaron ratas Wistar albinas macho con un peso de 150-200 g. Los animales se mantuvieron en jaulas de polipropileno con lecho de cáscaras y tapas de acero inoxidable. Las ratas se alimentaron con dieta comercial para ratas y agua Aquaguard ad libitum. El experimento se diseñó y se realizó de acuerdo con las normas éticas para animales aprobadas por el Ministerio de Justicia Social y Capacitación, Gobierno de la India y luego de la aprobación del Comité Institucional de Ética en Animales de la Escuela de Medicina T N y el Hospital BYL Nair, Mumbai.

El pelo del dorso de las ratas se retiró con la ayuda de una maquinilla de afeitar estéril bajo anestesia con ketamina-xilazina. Después los animales se distribuyeron aleatoriamente en 6 grupos diferentes, que contienen cada uno 6 animales, como se muestra en la Tabla 1 a continuación. Se evaluó la eficacia de la formulación tópica de aceite NM-2 en comparación con los ingredientes individuales aceite de *Brassica campestris* (aceite de mostaza), cera de abejas, *Dryobalanops camphora* (alcanfor) y Voveran emulgel una preparación disponible en el mercado.

Tabla 1: Agrupación de los animales para el estudio

No.	Descripción del grupo	Núm. del Animal	Dosis del fármaco en estudio
1	Control de Enfermedad	6	-
2	Diclofenaco	6	1 g a 1 % p/p gel (Voveran emulgel)
3	Formulación NM-2	6	1 ml
4	Aceite de Mostaza	6	1 ml
5	Cera de Abejas	6	1 g
6	Alcanfor	6	1 ml

Los medicamentos en estudio se aplicaron por vía tópica sobre los lomos rasurados de los animales durante 7 días consecutivos. En el 8vo día, los fármacos de prueba se aplicaron como de costumbre y 30 minutos después, se inyectó solución de carragenina (0,1 ml de solución al 1 % p/v) por vía subcutánea en el lado plantar de la pata trasera derecha de los animales de todos los grupos. La pata se marcó con tinta al nivel del maléolo lateral y se sumergió en mercurio hasta esta marca. El volumen de la pata se midió por pletismografía inmediatamente antes (0 h), y a 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h y 24 h después de la inyección de carragenina. Los valores de actividad antiinflamatoria se expresaron como el porcentaje de cambio en el volumen de la pata de la siguiente manera:

$$\text{Porcentaje de cambio en el volumen de la pata} = ((V_t - V_0)/V_0) \times 100$$

Donde V_t = Volumen de la pata 5 horas después de la inyección de carragenina
 V_0 = Volumen de la pata a 0 horas

Análisis estadístico:

Todos los valores se expresan como la media \pm SD. El análisis estadístico se aplicó con el uso del software Graph pad PRISM 5 (Graph pad Software Inc., San Diego, CA). Para la determinación del porcentaje de cambio en el volumen de la pata, se llevó a cabo un análisis de varianza de una vía (ANOVA), seguido de la prueba post-hoc de Tukey para identificar las diferencias significativas entre los grupos.

Tabla 2:

Efecto de Diclofenaco, NM-2 e ingredientes individuales sobre el edema de la pata inducido por carragenina en ratas:				
Grupo #	Tiempo			
	0 h	2 h	5 h	24 h
Control de Enfermedad	0.25 \pm 0.05	0.77 \pm 0.06	0.62 \pm 0.05	0.55 \pm 0.08
Diclofenaco	0.23 \pm 0.05	0.67 \pm 0.06	0,38 \pm 0,05***	0,20 \pm 0,05***
NM-2	0.28 \pm 0.05	0.71 \pm 0.01	0,33 \pm 0,05***	0,21 \pm 0,05***
Aceite de Mostaza	0.29 \pm 0.02	0.71 \pm 0.08	0,36 \pm 0,09***	0,35 \pm 0,05***
Alcanfor	0.33 \pm 0.05	0.7 \pm 0.05	0.62 \pm 0.06	0,50 \pm 0,06###
Cera de Abejas	0.31 \pm 0.04	0.75 \pm 0.05	0.66 \pm 0.08	0,59 \pm 0,10###

Los valores se expresan como la Media \pm SD (n=6 por grupo). * P <0,05, ** P <0,01 y *** P <0,001 en comparación con el grupo de control de enfermedad. ### P <0,001 en comparación con el grupo de NM-2. @ P <0,05, @@ P <0,01 y @@@ P <0,001 en comparación con el grupo de Diclofenaco

La Tabla 2 anterior, así como la Figura 1 muestran que la inflamación máxima en las patas de los animales se observó a las 2 h después de la inyección de carragenina. Hubo una disminución significativa en el volumen de la pata de ratas tratadas con la formulación NM- 2 en comparación con el control de enfermedad (P <0,05), Diclofenaco e ingredientes individuales de la formulación NM-2.

Tabla 3:

Grupo #	Tiempo		
	2 h	5 h	24 h
Control de Enfermedad	224,44±79,09	161,11±63,82	131,94±55,88
Diclofenaco	202,5±79,48	75±82,15*	-16,66±25,81***
Formulación NM-2	156,11±46,25	19,44±22,15***	-19,44±40,02***
Aceite de Mostaza	145,77±20,83	36,66±26,24**	20±16,32***
Alcanfor	113,88±30,12	90,27±28,09	51,38±18,57**
Cera de Abejas	141,66±29,34	112,5 ±24,57##	90,27±38,87

Los valores se expresan como la Media±SD (n=6 por grupo). * $P<0,05$, ** $P<0,01$ y *** $P<0,001$ en comparación con el grupo de control de enfermedad. ## $P<0,01$ en comparación con el grupo de NM-2. @ $P<0,05$, @@ $P<0,01$ y @@@ $P<0,001$ en comparación con el grupo de Diclofenaco

La Tabla 3 anterior, así como la Figura 2 muestran que el porcentaje de disminución en el volumen de la pata fue significativo en el grupo de NM-2 ($P<0,001$) en comparación con el control de enfermedad, el grupo de Diclofenaco ($P<0,05$) así como con los grupos de ingredientes individuales. Además, el beneficio máximo & más rápido se observó con la formulación NM-2

Resumen:

La formulación NM-2 mostró una disminución significativa en el volumen de la pata lo que indica de este modo una disminución de la inflamación que se manifestó como efecto analgésico. Entre los tres ingredientes de NM-2, solo el aceite de mostaza mostró efecto antiinflamatorio que fue estadísticamente significativo. Sin embargo, este efecto así como los efectos combinados de los tres ingredientes es decir aceite de mostaza, cera de abejas y alcanfor fueron mucho menores que el observado con la formulación NM-2. Por lo tanto la actividad antiinflamatoria y analgésica de NM-2 se debe a los efectos sinérgicos de sus ingredientes individuales. Para concluir, la formulación NM-2 ha demostrado ser una promesa significativa para aliviar la inflamación y para la analgesia.

Ejemplo 3 - Evaluación del efecto de la formulación tópica de aceite en comparación con sus ingredientes individuales en la hiperalgesia inducida por privación del sueño REM:

El sueño restringido crónicamente se ha convertido en la actualidad en un problema generalizado y grave en nuestra sociedad. La privación del sueño se considera frecuentemente como un factor estresante, dado que varios estudios han demostrado la activación de los sistemas de estrés clásicos y niveles plasmáticos elevados de las hormonas del estrés tales como adrenalina y cortisol. El sueño en sí parece tener efectos supresores sobre los sistemas de estrés y, por consiguiente, la privación del sueño mantiene la actividad de estos sistemas al nivel más alto que aparece durante la vigilia. El estrés puede tener efectos bilaterales sobre los fenómenos relacionados con el dolor. Aunque el estrés agudo puede producir analgesia en animales y humanos; también se ha informado que el estrés crónico o repetitivo produce hiperalgesia (aumento de la sensibilidad a estímulos dolorosos) o alodinia (dolor activado por estímulos inocuos). El modelo de rata de privación del sueño de movimientos oculares rápidos (REM) es un modelo en donde se ha demostrado que la privación del sueño da lugar a un aumento de la respuesta de dolor frente a estímulos eléctricos dolorosos, lo que es un indicador indirecto de estrés.

Por lo tanto, este estudio experimental tuvo como objetivo evaluar el potencial de una formulación NM-2 y sus ingredientes individuales de mejorar o disminuir la hiperalgesia inducida por estrés asociado con la privación del sueño REM (insomnio).

Materiales y métodos:

En el estudio se usaron 2 técnicas; la técnica de maceta modificada & el método de placa caliente.

Fundamento lógico de la técnica de maceta modificada:

La técnica de maceta modificada se usó para inducir privación del sueño REM. En este método, las ratas se colocan en plataformas elevadas en un tanque de agua durante 96 h. Durante el sueño REM se produce atonía muscular como resultado de lo cual cuando un animal entra en sueño REM se cae de la plataforma al agua. Por lo tanto, el animal se despierta y vuelve a subir a la plataforma. Este método previene el sueño REM y permite otras etapas del sueño. Cuando

tales animales privados del sueño se someten a un estímulo nocivo tal como una placa caliente, muestran reducción del umbral de dolor y aumento de la sensibilidad al dolor en comparación con animales que no se han privado del sueño.

Fundamento lógico del método de placa caliente:

5

Las patas de las ratas son muy sensibles al calor a temperaturas que no dañan la piel. Las respuestas mostradas por ratas colocadas sobre una placa caliente son saltar, retirar las patas y lamer las patas. Por lo tanto, esta prueba se usa para evaluar el umbral de dolor y la respuesta del animal a estímulos dolorosos leves.

10

Procedimientos del estudio:

15

Para el estudio se usaron ratas Wistar albinas macho con un peso de 150-200 g. Los animales se mantuvieron en jaulas de polipropileno con lecho de cáscaras y tapas de acero inoxidable. Las ratas se alimentaron con dieta comercial para ratas y agua Aquaguard ad libitum. Las condiciones de temperatura de la instalación de alojamiento de los animales se mantuvieron a 25±2 °C y la humedad relativa a 65±5 %. El experimento se diseñó y se realizó de acuerdo con las normas éticas para animales aprobadas por el Ministerio de Justicia Social y Capacitación, Gobierno de la India y luego de la aprobación del Comité Institucional de Ética en Animales de la Escuela de Medicina T N y el Hospital BYL Nair, Mumbai.

20

El pelo del dorso de las ratas se retiró con la ayuda de una maquinilla de afeitar estéril bajo anestesia con ketamina-xilazina. Después los animales se distribuyeron aleatoriamente en 6 grupos que contienen cada uno 6 animales como se muestra en la Tabla 4 a continuación. El Diclofenaco, un agente antiinflamatorio no esteroideo (AINE) se usó como el control positivo por 2 motivos; en primer lugar, no existe ningún agente tóxico contra el estrés o el insomnio disponible y en segundo lugar, el parámetro que se evalúa es la respuesta a estímulos nocivos.

25

El estudio se llevó a cabo para evaluar la eficacia de la formulación NM-2 en comparación con sus ingredientes individuales aceite de mostaza, cera de abejas y alcanfor y la preparación Diclofenaco disponible en el mercado.

Tabla 4:

30

Agrupación de los animales para el estudio:				
No.	Descripción del grupo	Núm. del Animal	Dosis del fármaco en estudio	
1	Control de Enfermedad	6		
35	2	Diclofenaco	6	1 g a 1 % p/p gel (Voveran emulgel)
	3	Formulación NM-2	6	1 ml
	4	Aceite de Mostaza	6	1 ml
40	5	Cera de Abejas	6	1 g
	6	Alcanfor	6	1 ml

45

Para inducir privación del sueño, se usó una caja de acrílico (24 cm x18 cm x18 cm) con plataformas de 9 cm de alto y 6 cm de diámetro. La caja se llenó con agua hasta un nivel de 1 cm por debajo de la plataforma. Se colocaron 6 animales en cada plataforma durante 96 h. Una plataforma se mantuvo vacía para reducir el estrés por inmovilización. Al final de las 96 h, los animales se retiraron de la caja y se sometieron a prueba con placa caliente. La temperatura de la placa caliente se ajustó a 50±2 °C. Se observaron las respuestas de los animales a estímulos dolorosos (lamer las patas, saltar, retirar la pata) y se registró la duración de tiempo que el animal pudo permanecer en la placa caliente. Después las sustancias de prueba se aplicaron en el lomo de los animales respectivos. Una hora después de la aplicación de las sustancias de prueba, los animales volvieron a someterse a la placa caliente y se evaluó la respuesta. El tiempo de corte se ajustó a 60 segundos. Los resultados se informan como tiempo de retirada de la pata antes y después de la aplicación de las sustancias de prueba y porcentaje de cambio en el umbral de dolor que se calculó de la siguiente manera:

55

$$\% \text{ de cambio en el umbral de dolor} = \frac{R_t - R_0 \times 100}{R_0}$$

Donde Rt= tiempo de retirada de la pata después de la aplicación de la sustancia de prueba
Ro= tiempo de retirada de la pata antes de la aplicación de la sustancia de prueba

60

Análisis estadístico:

65

Todos los valores se expresan como la media ± SD. El análisis estadístico se aplicó con el uso del software Graph pad PRISM 5 (Graph pad Software Inc., San Diego, CA). Para la determinación del porcentaje de cambio en el umbral de dolor, se llevó a cabo el análisis de varianza de una vía (ANOVA), seguido de la prueba post-hoc de Tukey para identificar las diferencias significativas entre los grupos. Para determinar el tiempo de retirada de la pata, se usó un ANOVA de dos

vías seguido del análisis post-hoc de Bonferroni con tratamiento y tiempo como las dos variables. Un valor de $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo.

Resultados:

Efecto de Diclofenaco, formulación NM-2 y sus ingredientes individuales sobre el tiempo de retirada de la pata en hiperalgesia inducida por privación del sueño REM

Tabla 5:

Grupos	Tiempo de retirada de la pata (s)		Aumento en el tiempo de retirada de la pata
	Antes de la formulación	Después de la formulación	
Control de Enfermedad	5,50±1,22	3,83±0,89	-1.67
Diclofenaco	6,67±3,33	12,67±1,96**	6.00
NM-2	6,83±2,23	34,00±8,67***	27.17
Aceite de Mostaza	8,83±2,92	15,83±2,23###	7.00
Alcanfor	4,50±1,38	10,67±2,16###	6.17
Cera de Abejas	3,00±1,41	5,67±0,82###	2.67

Los valores se expresan como la media±SD (n=6 por grupo). * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ y *** $P < 0,001$ en comparación con el grupo de control de enfermedad, @ $P < 0,05$, @@ $P < 0,01$ y @@@ $P < 0,001$ en comparación con el grupo de Diclofenaco, # $P < 0,05$, ## $P < 0,01$ y ### $P < 0,001$ en comparación con el grupo de NM 2.

La Tabla 5 anterior así como las Figuras 3 y 4 muestran que: hubo un aumento significativo en el umbral de dolor en ratas del grupo de NM-2 ($P < 0,001$) en comparación con el grupo de control, Diclofenaco ($P < 0,05$) y los grupos de ingredientes individuales (referirse a la Tabla 5 & la Figura 3); además el porcentaje de aumento en el umbral de dolor del grupo de NM-2 manifestado en términos de aumento en el tiempo de retirada de la pata fue significativamente mayor del grupo de NM-2 en comparación con el grupo de Diclofenaco así como con los grupos de ingredientes individuales (referirse a la Tabla 5 & la Figura 4)

Resumen

El tratamiento con la formulación NM-2 mostró un aumento significativo en el tiempo de retirada de la pata y por lo tanto un aumento significativo en el porcentaje de umbral de dolor en comparación con el grupo de control de enfermedad. El efecto observado con la formulación NM-2 fue mayor que el de cada uno de sus ingredientes individuales, lo que indica que la actividad de NM-2 para superar la hiperalgesia inducida por privación del sueño REM se debe a los efectos sinérgicos de sus ingredientes individuales. Por lo tanto, la eficacia de la formulación NM-2 para aliviar la hiperalgesia inducida por privación del sueño, indica que puede tener propiedades que alivian el estrés.

En vista de los resultados anteriores se observa que los diversos efectos alcanzados de la formulación de la presente invención se deben a las actividades sinérgicas de sus ingredientes individuales.

Reivindicaciones

- 5 1. Una composición para aliviar una o más de las afecciones de dolor, estrés e insomnio que comprende aceite de *Brassica campestris* en el intervalo de 40 a 75 partes en peso de la composición, cera de abejas en el intervalo de 15 a 50 partes en peso de la composición y *Dryobalanops camphora* en el intervalo de 1 a 20 partes en peso de la composición.
- 10 2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la *Dryobalanops camphora* está en forma cristalina o en forma de aceite.
- 15 3. La composición de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde el aceite de *Brassica campestris* es 55 a 65 partes en peso de la composición, la cera de abejas es 25 a 35 partes en peso de la composición y *Dryobalanops camphora* es 3 a 13 partes en peso de la composición.
- 20 4. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 que comprende además uno o más aceites, perfumes o sus combinaciones.
- 25 5. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 que comprende además uno o más ingredientes activos naturales o sintéticos, excipientes aceptables para el uso farmacéutico, o sus combinaciones.
- 30 6. Una formulación que comprende la composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.
- 35 7. Un método para preparar una formulación que comprende la composición de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde el método comprende: calentar 40 a 75 partes en peso de aceite de *Brassica campestris* a una temperatura de 60 °C - 225 °C durante un período de tiempo específico; mezclar 15 a 50 partes en peso de cera de abejas en el aceite de *Brassica campestris* caliente hasta que la cera de abejas se disuelva para producir una mezcla; retirar la mezcla de la fuente de calor; y añadir a la mezcla 1 a 20 partes en peso de *Dryobalanops camphora* y mezclar.
- 40 8. El método de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el aceite de *Brassica campestris* se calienta a una temperatura de 60 °C - 100 °C.
- 45 9. El método de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el aceite de *Brassica campestris* es 55 a 65 partes en peso de la composición.
10. El método de acuerdo con la reivindicación 7, en donde la cera de abejas es 25 a 35 partes en peso de la composición.
11. El método de acuerdo con la reivindicación 7, en donde la *Dryobalanops camphora* es 3 a 13 partes en peso de la composición.
12. El método de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el método comprende además añadir uno o más de otros ingredientes activos naturales o sintéticos, excipientes aceptables para el uso farmacéutico o sus combinaciones.
13. Una composición como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-5 para usar en el alivio de una o más de las afecciones de dolor, estrés e insomnio.

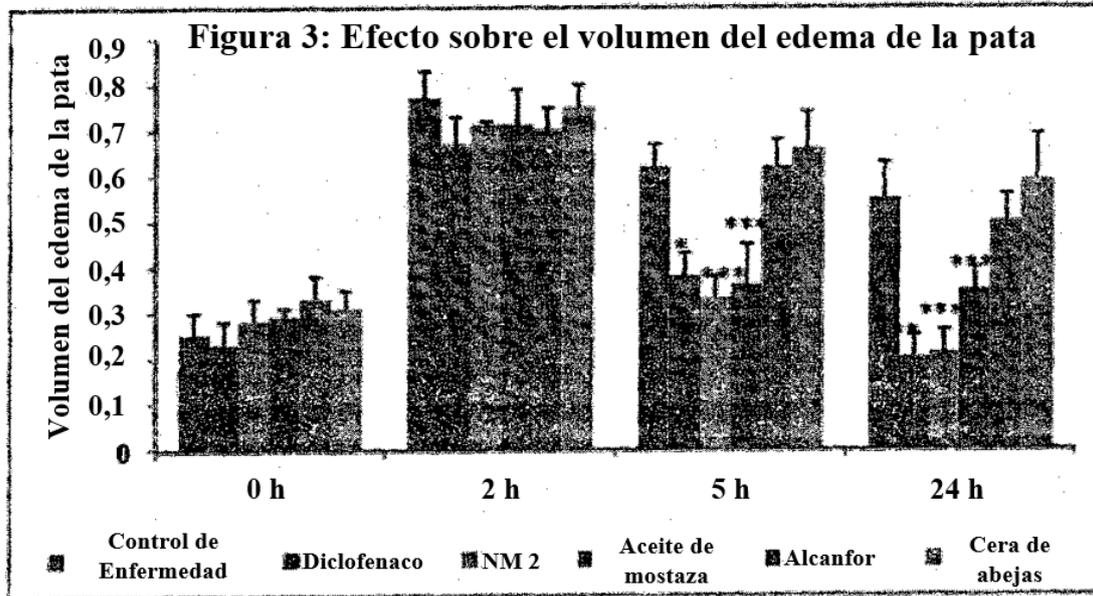


Figura 1

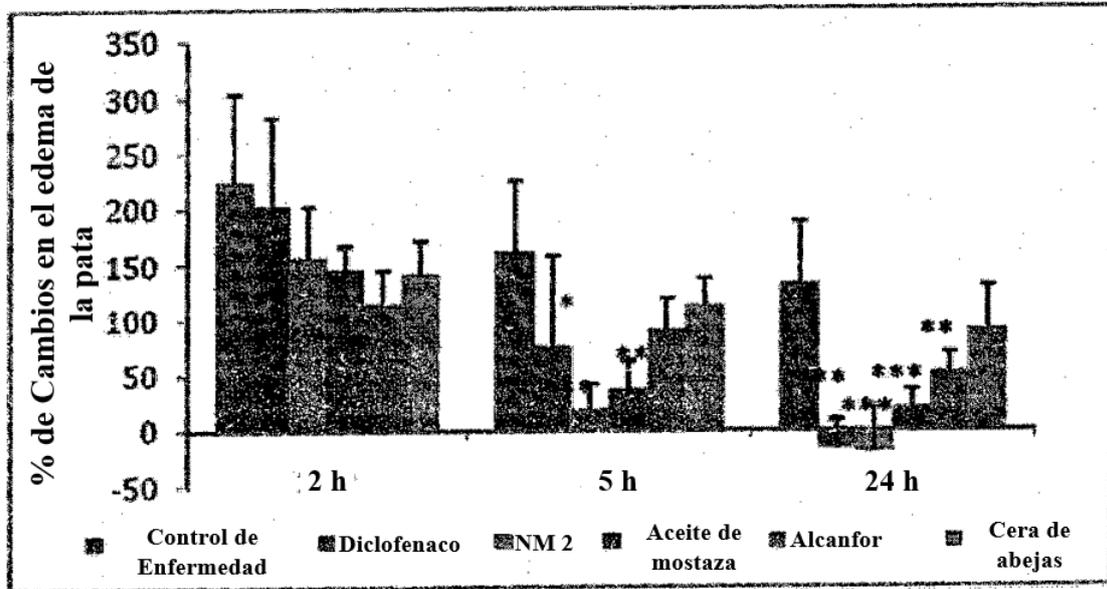


Figura 2

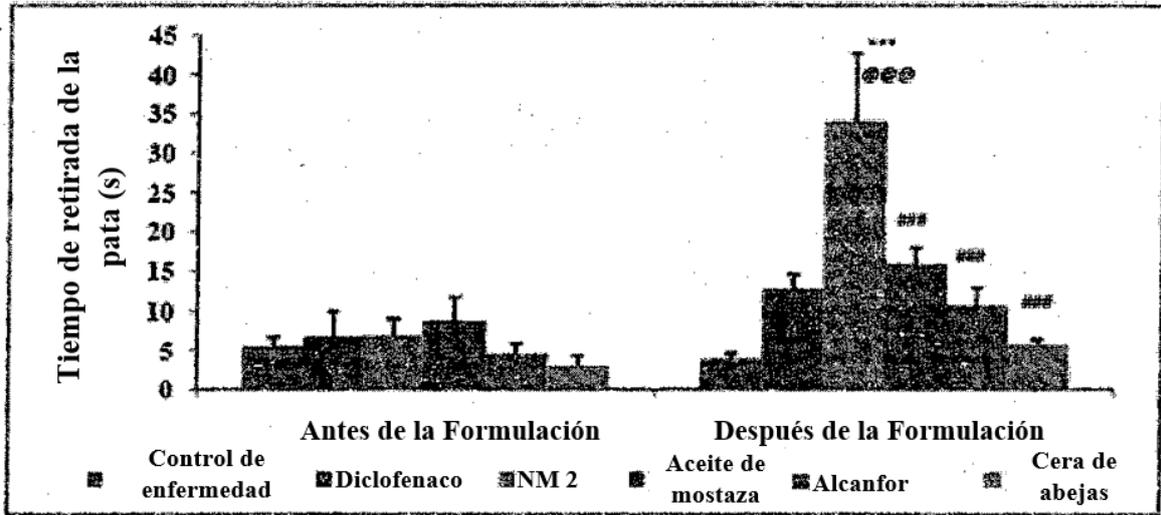


Figura 3

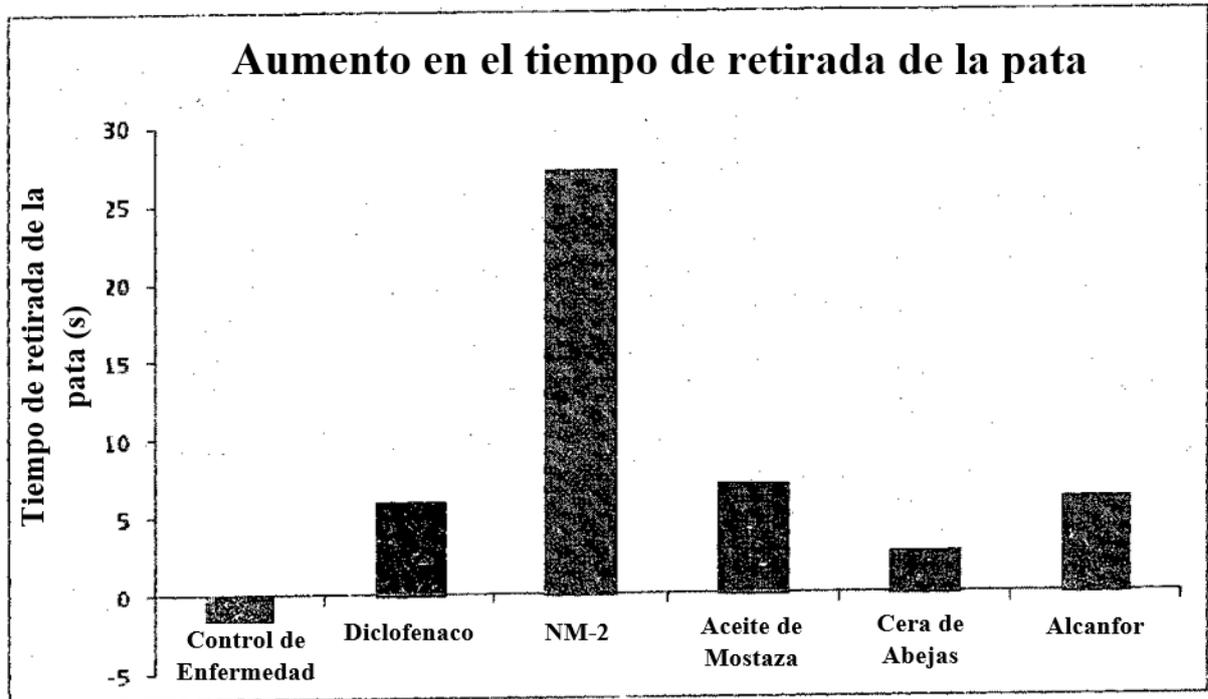


Figura 4